



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE MEDICINA**

CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

T E S I S

**“EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ENTERAL DEL ÁCIDO
DOCOSAHEXAENOICO SOBRE EL DESARROLLO DE FALLAS
ORGÁNICAS DE NEONATOS SOMETIDOS A CIRUGÍA”**

QUE REALIZÓ PARA OBTENER EL TÍTULO DE POSGRADO EN LA SUBESPECIALIDAD DE:

NEONATOLOGÍA

P R E S E N T A:

Dra. Sandra Patricia Lagunes Salazar.

TUTOR:

M.C. Mariela Bernabe García.
Unidad de Investigación Médica en Nutrición.

COTUTOR:

Dr. Raúl Villegas Silva
Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales.

COLABORADOR:

Dra. Madrigal Muñiz Olivia

Financiado por el Fondo para la Investigación en Salud, IMSS N° FIS/IMSS/PROT 094 y 516.

México, D. F.

Marzo 2010.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El presente trabajo se realizó bajo la asesoría de la M. en C. Mariela Bernabé García y el Dr. Raúl Villegas Silva, en la unidad de Cuidados Intensivos Neonatales y la Unidad de Investigación Médica en Nutrición del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Agradecimientos:

A mis padres:

*Que me dieron lo más importante para llegar hasta donde estoy:
La educación, preparación y formación, así como todo un ejemplo a seguir.
Gracias por su cariño y apoyo a lo largo de mi carrera.
A ustedes dedico esta tesis, porque agradezco infinitamente lo que han hecho por mí.*

A mi hija Suri Alejandra:

Gracias por ser mi inspiración y el mayor estímulo para realizar este trabajo. Cada minuto que hemos pasado lejos uno del otro esta reflejado en el TE AMO.

A mi querido esposo:

*Gracias por tu amor, comprensión, confianza y apoyo para salir adelante, por tu granito de arena que esta presente en este trabajo.
A ti Rafael, también dedico esta tesis y te agradezco toda tu ayuda.*

A la M. en C. Mariela Bernabé Garcia:

*Por su apoyo, confianza y tiempo, pero sobre todo por su paciencia y amistad.
Por el gran ejemplo de disciplina y perseverancia que trabajo conmigo para la realización de esta meta.
Mil gracias por su ayuda, sin usted no lo hubiera logrado.*

Al Dr. Raúl Villegas Silva:

*Jefe del servicio de Pediatría y tutor de esta tesis; quien trabajo conmigo mano a mano para lograr la realización de esta meta.
que me enseñó no solo parte de la neonatología sino como desarrollarme en este ámbito y que es una de las personas que me inspiró a realizar esta subespecialidad.
Estoy muy agradecida por la formación que me brindó. Mil gracias por su ayuda.*

Dra Madrigal Muñiz

*Por su dedicación a los pacientes y su amistad durante mi residencia.
Gracias por toda su ayuda brindada durante mi formación como neonatóloga.*

A la Dra Heladia J. García:

Quien ha sido para mí una gran amiga, maestra que me enseñó el respeto por cada paciente.

Dr. Alfredo Ulloa:

Por compartir con nosotros sus conocimientos y amistad, y por la convivencia que nos hizo más unidos.

Dra. Carina Fera:

Por su colaboración en mi formación profesional y por sus consejos de vida.

ÍNDICE

	Pág.
Resumen	7
Introducción	8
1. Antecedentes	10
1.1 Respuesta inflamatoria al trauma quirúrgico y fisiopatología de la falla orgánica.	10
1.2. Sistema inmune del neonato	12
1.3 Efectos de los ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga (LC-PUFAS) sobre la modulación de la respuesta inflamatoria.	13
1.3.1 Efectos sobre la síntesis de eicosanoides	13
1.3.2 Efectos sobre la expresión de genes	14
1.3.3 Resolvinas	15
1.4 Estudios sobre la administración de LC-PUFAS n-3 en pacientes con respuesta inflamatoria.	15
2. Justificación	18
3. Planteamiento del problema	19
4. Objetivos	20
5. Hipótesis	21
6. Material y métodos	22
6.1 Diseño	22
6.2 Lugar	22
6.3 Población de estudio	22
6.4 Criterios de selección	22

6.4.1 Criterios de inclusión	22
	Pág.
6.4.2 Criterios de eliminación	23
6.5 Tipo de muestreo	23
6.6 Tamaño de muestra	23
6.7 Definición operativa de variables	24
6.8 Procedimientos	27
6.8.1 Aleatorización de la intervención	27
6.8.2 Administración de la dosis	27
6.8.3 Cegamiento	28
6.9 Mediciones	29
6.9.1 Perfil de ácidos grasos al ingreso del estudio	29
6.9.2 Ingestión de leche humana	29
6.9.3 Gravedad de la enfermedad	29
6.9.4 Datos demográficos	29
6.10 Análisis estadístico	30
6.11 Aspectos éticos	30
6.12 Financiamiento	31
7. Resultados	32
7.1 Variables demográficas	32
7.2 Fallas orgánicas	33
7.3 Estimación de riesgos para el desarrollo de fallas orgánicas	35
7.4 Variables intercurrentes en neonatos	36
8. Discusión	38
9. Conclusiones	42
10. Recomendaciones	43

11. Referencias bibliográficas	44
	Pág.
12. Anexos	50
12.1 Anexo 1. Obtención y preparación de los eritrocitos.	50
12.2 Anexo 2. Separación de lípidos y determinación del perfil de lípidos	51
12.3 Anexo 3. Gravedad del recién nacido enfermo.	52
12.3 Anexo 4. Hoja de recolección de datos	53
12.4 Anexo 5. Registro de leche humana durante el estudio	56
12.6 Anexo 6. Carta de consentimiento informado	57

RESUMEN

“EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ENTERAL DEL ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO SOBRE EL DESARROLLO DE FALLAS ORGÁNICAS DE NEONATOS SOMETIDOS A CIRUGÍA”

Lagunes-Salazar Sandra Patricia¹, Bernabe-García Mariela², Villegas-Silva Raúl¹, Madrigal-Muñiz Olivia¹
¹Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales y ²Unidad de Investigación Médica en Nutrición del Hospital de Pediatría, C. M. N. Siglo XXI.

Antecedentes. Una intervención quirúrgica puede desencadenar una respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), involucrando mediadores como citocinas inflamatorias y anti-inflamatorias. Si no se alcanza el equilibrio entre éstas, se puede favorecer el desarrollo de la falla de uno o varios órganos, lo que aumenta el riesgo de muerte.

La administración de ácidos grasos n-3, como el docosahexaenoico (DHA), ha mostrado beneficios como atenuación de citocinas inflamatorias y menor frecuencia de falla orgánica en adultos con SIRS. A nuestro conocimiento, no se conoce el efecto sobre la frecuencia de fallas orgánicas en el neonato.

Objetivo. Evaluar el efecto de la administración enteral de DHA sobre la frecuencia de fallas orgánicas en neonatos sometidos a cirugía cardiovascular.

Material y Métodos. Ensayo clínico controlado, doble ciego. Se captaron neonatos programados a cirugía cardiovascular, quienes recibieron aleatoriamente por vía enteral 75 mg de DHA/kg/día (grupo DHA) ó placebo (grupo AG), desde 2 días pre-cirugía y durante 6 días post-cirugía. Se determinó su efecto sobre el desarrollo de fallas orgánicas (cardiovascular, respiratoria, hematológica, renal y hepática), así como su duración, que se evaluaron hasta el egreso de la UCIN. Para hacer el análisis estadístico se utilizó la prueba exacta de Fisher, la prueba de t de Student o la prueba U-Mann-Whitney.

Resultados. Se estudiaron 23 neonatos, 10 en el grupo DHA y 13 en el grupo AG. El total de fallas orgánicas fue menor en el grupo DHA comparado con el grupo AG. Considerando el número de sujetos que desarrollaron falla orgánica se evaluaron los riesgos para desarrollar estas fallas el cual demostró 5.4 veces más riesgo de presentar falla orgánica en el grupo AG, con una reducción de riesgo del 81% para el grupo DHA.

Conclusiones. Los datos sugieren que la administración enteral de DHA puede disminuir la frecuencia de falla orgánica en neonatos que se someten a un procedimiento quirúrgico.

INTRODUCCIÓN:

La inflamación es una respuesta normal de la defensa del huésped ante agresiones. Este proceso inflamatorio puede ser producido por múltiples estímulos como microorganismos, endotoxinas-exotoxinas, procesos de isquemia-reperfusión o lesiones de tejidos blandos; entre estos últimos se incluyen las lesiones de los tejidos por un trauma quirúrgico, que actúan como estímulos no específicos que activan la respuesta inflamatoria.¹ La magnitud e intensidad de la respuesta inflamatoria es un reflejo biológico de la intensidad y magnitud de la agresión, de forma que una herida quirúrgica limpia provoca una respuesta inflamatoria local modesta, mientras que heridas producidas por cirugía mayor o infecciones sistémicas, estimulan una respuesta inflamatoria más grave, con una alta producción de citocinas pro-inflamatorias como la interleucina (IL-1), IL-6, Factor de necrosis tumoral (TNF)-alfa (α) denominado síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS).¹⁻⁴ Los mayores activadores de la respuesta inflamatoria son la sepsis, el trauma severo, quemaduras y cirugía mayor²⁻⁶

Durante la respuesta inflamatoria sistémica se activa un mecanismo de contención denominado respuesta anti-inflamatoria compensatoria; si la hiperinflamación persiste ocurre daño a uno o varios órganos; mientras que si persiste el estado de anti-inflamación se favorece la inmunosupresión, la adquisición de infecciones, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y el desarrollo de falla orgánica múltiple. De esta manera, la homeostasis depende del equilibrio entre las respuestas pro y anti-inflamatorias.^{2,4,6}

El tratamiento quirúrgico para corregir malformaciones cardíacas congénitas en neonatos es frecuente en nuestro hospital, por lo que se ha sugerido la inmuno-nutrición con la administración de ácidos grasos de cadena larga omega 3 (n3-LC-PUFAS), los cuales

modulan la inflamación;²²⁻²⁶ Estos actúan directamente mediante la sustitución del ácido araquidónico (AA) como sustrato de eicosanoides e inhibiendo el metabolismo del AA e indirectamente alterando la expresión de genes inflamatorios, inhibiendo la activación del factor de transcripción nuclear KB (NF-KB), que es un factor de transcripción en las vías de señalización de citocinas inflamatorias, disminuyendo la producción de citocinas inflamatorias y mediante la síntesis de resolvinas, que son productos derivados de los n3-LC-PUFAS, los cuales resuelven en menor tiempo procesos locales de inflamación. Por lo anterior, los n-3 LC-PUFAs se consideran como agentes antiinflamatorios.^{29,30}

Estos ácidos grasos que se han administrado por vía enteral o parenteral, no parecen ejercer ningún efecto adverso, sin embargo el uso de NPT no siempre es factible, tiene mayor riesgo de complicaciones además de que su costo es elevado. Aunque hay reportes del efecto de los LC- PUFAs n-3 sobre la evolución clínica en pacientes sometidos a cirugía estos provienen de adultos. A la fecha, no hay estudios en neonatos donde se evalúe el efecto de los n3-LC-PUFAS en el desarrollo de fallas orgánicas, por lo que no sabemos si estos niños respondan de la misma forma que los adultos cuando se someten a una cirugía y al utilizar DHA por vía enteral. Por lo anterior, en este estudio se evaluó si la administración enteral de DHA a neonatos que son sometidos a un procedimiento quirúrgico disminuye la frecuencia de fallas orgánicas.

1.- ANTECEDENTES:

1.1 Respuesta inflamatoria y fisiopatología de la falla orgánica.

La inflamación es una respuesta rápida, humoral y celular amplificada, considerada como un mecanismo de protección. Las citocinas dirigen la respuesta inflamatoria al lugar donde se ha producido una agresión o una inflamación y son necesarias para una correcta recuperación de las lesiones.¹⁻² Sin embargo, una excesiva producción de citocinas pro-inflamatorias como la IL-1B, TNF, IL-6 entre otras, puede ocasionar inestabilidad sistémica y hemodinámica. Dicha situación es conocida como Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS).³⁻⁶ El SIRS representa, por tanto, la situación clínica en la cual la función de contención de la inflamación ha fallado. Se caracteriza como un cuadro clínico progresivo que involucra una respuesta inflamatoria generalizada, asociado a una agresión orgánica, independientemente de su causa. Cuando el SIRS es resultado de un proceso infeccioso confirmado, es denominado sepsis. Una respuesta similar o incluso idéntica, puede producirse en ausencia de una infección, es decir, que la activación de células inflamatorias y la liberación de citocinas pueden producir un síndrome, prácticamente indistinguible de la respuesta sistémica a una infección grave.^{5,6,9}

Para que los mediadores del SIRS no desarrollen efectos nocivos por sobre-estimulación, el organismo rápidamente desarrolla una respuesta anti-inflamatoria. En esta reacción compensatoria intervienen citocinas anti-inflamatorias, como las interleucinas 4 (IL-4) 10 (IL-10) y 11 (IL-11), receptores solubles y antagonistas de receptores. Los mediadores pro y anti-inflamatorios interaccionan inicialmente en el micro-ambiente de la inflamación hasta alcanzar un balance y restaurar la homeostasis. Es decir, que una respuesta inflamatoria es necesaria para inducir la restauración de tejidos o la eliminación infecciones, conjuntamente

con la producción de citocinas anti-inflamatorias que contra-regulan el proceso inflamatorio.^{5,6}

Por tanto, se cree que las citocinas anti-inflamatorias tienen la función de inhibir la inflamación una vez que ésta ha cumplido su propósito, cuando ésta respuesta anti-inflamatoria se hace sistémica se denomina Síndrome de Respuesta Anti-inflamatoria Compensatoria (CARS).^{4,5} Si esta reacción es grave o si predomina pueden alterar la función de los monocitos y reducir la capacidad de las células de producir citocinas pro-inflamatorias, manifestándose clínicamente como anergia o inmunosupresión, lo que favorece la adquisición de infecciones.⁶

En un procedimiento quirúrgico, el trauma realizado por la cirugía provoca una respuesta inflamatoria local, pero que puede dar manifestaciones sistémicas con cambios en la cuenta de leucocitos, en la temperatura, saturación de oxígeno en sangre, glucemia y otros cambios hormonales. Aunado a las lesiones orgánicas producidas por la hipoxemia de los tejidos en un paciente con cardiopatía congénita desde el nacimiento hasta el momento del diagnóstico, como efecto de una anomalía de la circulación pulmonar o de problemas en la circulación sistémica (en casos de obstrucción de la salida de la circulación del lado izquierdo), los pacientes que en la etapa neonatal necesitan cirugía por lo general se encuentran con mayor riesgo de desarrollar SIRS y posiblemente también de falla de algún órgano.^{7,8}

La falla orgánica es una de las principales consecuencias negativas que puede producirse como consecuencia del desarrollo de SIRS. Cuando dicha disfunción es grave y afecta a más de un órgano, se habla de falla orgánica múltiple (FOM), que representa el desenlace más grave del SIRS.^{5,6}

Si bien existen diversas teorías sobre el desarrollo del FOM, todas concluyen en la transición del SIRS al FOM, en el caso del SIRS, se produce un fenómeno sistémico de activación de factores iniciadores y quimio-atrayentes, que conducen al contacto de éstos con todos los

polimorfonucleares que se encuentren en la circulación y también de todas las células endoteliales.⁴⁻⁶ Del mismo modo, estas señales son reconocidas también por los monocitos circulantes, que en vez de ser dirigidos a un lugar específico lesionado, se encuentran rodeados de quimio-atrayentes que inducen la producción de citocinas pro-inflamatorias, las cuales son vertidas al espacio extracelular, hay un predominio de acumulación de polimorfonucleares en los tejidos viscerales, coincidiendo en aquellos que se encuentran finalmente afectados en el desarrollo de FOM, es decir, pulmones, hígado, intestino donde aparece el mayor número de polimorfonucleares extravasados.^{5,11} Así se produce un ambiente pro-coagulante y una vasoconstricción que da lugar a una trombosis micro-circulatoria. Este proceso, que forma parte de la estrategia normal de contención en respuesta a una lesión o infección local, cuando se produce de forma sistémica o descontrolada, puede ser perjudicial al producirse una pérdida progresiva de la oxigenación y disponibilidad de sustratos en los tejidos. Así como consecuencia de la vasoconstricción y la trombosis, se produce una disminución de la perfusión que da como resultado en una necrosis focal⁴⁻⁶

Por lo general los sistemas más afectados en la FOM son el respiratorio, cardiovascular (los cuales suelen ser de los primeros en fallar), el riñón y el hígado, aunque en esta secuencia hay diferencias según los trabajos consultados.^{6,18,22} Además hay un incremento lineal en la mortalidad en función del número de sistemas orgánicos que fallan^{6,22} e influye además el grado de disfunción y el tiempo que dura esta falla.^{6,12,13}

1.2. Sistema inmune del neonato

Se conoce que la FOM es más frecuente en los neonatos por la mayor vulnerabilidad de las barreras naturales y en parte por el compromiso del sistema inmune¹²⁻¹⁵ particularmente debido a:

- La IgA secretora está muy disminuida tanto en los pulmones como en el sistema gastrointestinal. Además las barreras físicas naturales son inmaduras, especialmente piel, cordón umbilical, pulmón e intestino.^{16,17}
- Hay una disminución de la actividad de la vía alterna del complemento (C3). Existe una deficiencia en la opsonización de los gérmenes con cápsula de polisacáridos.^{16,17}
- Rápido agotamiento de los depósitos de neutrófilos maduros medulares cuando hay exposición a una infección. Estos neutrófilos tienen menor capacidad de adherencia y fagocitosis y menor capacidad bactericida.^{16,17}
- La inmunidad mediada por linfocito T helper y linfocito natural killer está alterada y la memoria inmunológica es deficiente.^{16,17}
- A mayor prematurez hay más inmadurez inmunológica y mayor frecuencia de infecciones.

Como parte de las estrategias para contener esta respuesta inflamatoria en pacientes críticos se ha sugerido la administración de inmuno-nutrientes,^{16,17} uno de éstos es la administración de ácidos grasos omega 3. Estos ácidos grasos cumplen una variedad de funciones dentro de las células inmunes ya que actúan como fuente para la generación de energía, como componente de la membrana de fosfolípidos, modificadores de la estructura de las proteínas, influenciando la localización celular y función de las proteínas, reguladores de la expresión de genes y precursores para la síntesis de mediadores lipídicos bioactivos como las prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas y resolvinas.²⁴⁻³⁰

1.3 Efectos de los ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga (LC-PUFAS) sobre la modulación de la respuesta inflamatoria.

1.3.1 Efectos sobre la síntesis de eicosanoides

Los efectos de los ácidos grasos omega 3 y omega 6 produce diferentes tipos de eicosanoides, que tienen diferentes efectos en las células inmunes.²⁷ En general, los

eicosanoides derivados de la serie omega 3 son menos potentes mediadores de la inflamación que los derivados del ácido araquidónico (AA) además de los efectos de estos eicosanoides son dosis dependientes. El AA de la serie omega 6 (n-6) es el principal sustrato para la síntesis de eicosanoides como las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos quienes participan como mediadores de la respuesta inflamatoria regulando la producción de citocinas inflamatorias, permeabilidad vascular, quimiotaxis de leucocitos, vasopresión y dolor, entre otros²⁴ El AA predomina en las membranas celulares debido a la abundancia de su precursor, el ácido linoleico en las dietas occidentales y en la leche humana en comparación con los ácidos grasos de la serie omega 3 (n-3).²⁴⁻²⁸

Los n-3 LC-PUFAS como el ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido eicosapentaenoico (EPA) contenidos en el aceite de pescado, también son precursores lipídicos alternativos para la síntesis de eicosanoides y su relevancia radica en que se ha reportado que los eicosanoides derivados de los n-3 LC-PUFAS son biológicamente menos potentes por lo que poseen propiedades inflamatorias reducidas comparados con los eicosanoides derivados de ácidos grasos n-6. Además, el EPA y el DHA compiten con el AA por la misma vía enzimática (COX Y 5-LOX), pero las enzimas muestran mayor afinidad hacia los n-3 LC-PUFAS cuando están disponibles simultáneamente, lo que conduce a una mayor formación de derivados de los n-3 LC-PUFAS a expensas de los derivados del AA. Por lo que la administración de n-3 LC-PUFAS como el DHA puede cambiar el balance hacia una inflamación atenuada ²⁴⁻²⁸ Otros mecanismos de los efectos del omega 3 y omega 6 se dan a través de la modificación de la expresión de genes.

1.3.2 Efectos sobre la expresión de genes

Los ácidos grasos omega 3 son reconocidos por inhibir la actividad pro-inflamatoria del factor nuclear kB (NF-kB), el cual induce la expresión de muchos genes pro-inflamatorios. Las vías

del NF- κ B comprenden una serie compleja de eventos mediada por diversas proteínas. La cual se puede dividir esos eventos dentro de la interacción ligando receptor, diseminación de la cascada de señalización y la unión del NF- κ B a secuencias de DNA y la transcripción de genes. El EPA bloquea NF κ B a través de la disminución de la degradación de la subunidad inhibitoria del NF κ B (I κ B) en monocitos humanos y en células pancreáticas cultivadas, por lo tanto se considera que los ácidos grasos n-3 tienen un papel inhibitor de la vía NF κ B. Hay evidencia de que los n-3 LC-PUFAS bloquea cada una de las 3 etapas de la actividad del NF- κ B de forma independiente.²⁴⁻²⁸

Otro mecanismo reportado es a través de la activación de los PPARs. Los PPARs son factores de transcripción nuclear activados por ligandos bien descritos que juegan un papel importante en la diferenciación celular, cáncer, sensibilidad a la insulina, aterosclerosis, etc. Los PPAR tienen la función de inhibir la activación del NF- κ B. Por lo anterior, los ácidos grasos n-3 disminuyen la señalización inflamatoria vía inhibición de NF κ B y disminuyen varios procesos inflamatorios.²⁴⁻²⁸

1.3.3 Resolvinas

Otro mecanismo antiinflamatorio de los n-3 LC-PUFAS es a través de las resolvinas que son compuestos que ayudan a limitar reacciones inflamatorias. Las resolvinas se sintetizan en la fase de resolución de la inflamación con acciones como la reducción del tráfico de neutrófilos, regulación de la producción de citocinas acortando el tiempo de resolución de la inflamación.^{29,30}

Así pues la evidencia demuestra que los ácidos grasos omega 3 (n-3 LC-PUFAS), modifica el tipo de eicosanoides, disminuyen la producción de citocinas inflamatorias y así favorecen una respuesta inflamatoria atenuada.²⁴⁻³⁰

1.4 Estudios sobre la administración de LC-PUFAS n-3 en pacientes con respuesta inflamatoria.

Hay escasos reportes en adultos donde se evalúe el efecto en el desarrollo de la FOM, dentro de éstos se han estudiado dietas enriquecidas con n-3 LC-PUFAS (EPA + DHA + Acido γ linolénico, AGL) por Pontes-Arruda y cols. en pacientes con respuesta inflamatoria secundaria a sepsis. Los pacientes que recibieron los n-3 LC-PUFAS mostraron una mejoría en la oxigenación (PO_2/FiO_2 de 226.8 ± 2.5 vs. 156.6 ± 2.7 en el grupo placebo), con menos días de ventilación mecánica (13.4 ± 1.2 vs 5.8 ± 1.0 , $p < 0.001$), favoreciendo la disminución de nuevas fallas orgánicas ($p < 0.001$) y la mortalidad (18 muertes en el grupo omega 3 (33%) vs 25 muertes en grupo placebo (52%).³¹ En el mismo sentido, Patch y colaboradores, quienes administraron una dieta similar suplementada con EPA y AGL en pacientes con insuficiencia respiratoria aguda (como modelo de respuesta inflamatoria) también demostraron una reducción en los mediadores de la inflamación pulmonar en el lavado broncoalveolar como IL-8, proteínas totales, neutrófilos y leucotrienos B_4 .³²

Por otro lado, Heller y cols. quienes administraron aceite de pescado a pacientes adultos con sepsis, peritonitis, cirugía abdominal y trauma múltiple, no encontraron un efecto benéfico en el desarrollo de FOM. Cabe destacar que en este estudio se administraron diferentes dosis de LC-PUFAS por nutrición parenteral y se compararon contra el grupo que recibió la menor dosis y no con un grupo control. No obstante, en este estudio el grupo que recibió la dosis de 0.15 – 0.2 g/kg/día mostró una disminución de la mortalidad hospitalaria predicha de 18.9% a 12%, (la mortalidad predicha fue evaluada por una escala de gravedad Simplified Acute Physiology Score II, SAPS); así como menor tasa de infección (de 67% a 95%) y menor estancia hospitalaria (23 vs. 41 días).³³

En otro estudio Gadek y cols en pacientes con falla respiratoria secundaria a sepsis, trauma o aspiración recibieron 15.6g de aceite de pescado por 4- 7 días, donde se demostró que los

pacientes que recibieron los n-3 LC-PUFAS mostraron 5 días menos de ventilación mecánica comparado con el grupo placebo (12 en el grupo DHA vs 17.6 en el grupo control) y menor desarrollo de fallas orgánicas (8 en el grupo DHA vs 28 en el grupo control)³⁴

Hay pocos estudios que evalúen de administración de n-3 LC-PUFAS en neonatos con respuesta inflamatoria. Los que existen se han realizado en esta unidad en neonatos a los cuales se les administro 100mg de DHA/ día por vía enteral durante la fase aguda de la sepsis en el cual presentaron mayor incorporación de éste en las membranas de los leucocitos al día 7 post intervención (p 0.001)³³ y que las concentraciones circulantes de IL-1 β e IL-6 fueron menores en el grupo DHA comparado con el grupo control.³⁶ en estos mismo niños se evaluó el efecto del DHA sobre el estado nutricio, los niños del grupo placebo tuvieron un mayor deterioro nutricio evaluado por una menor masa grasa y menor masa libre de grasa (p < 0.05), mientras que el grupo DHA preservó sus reservas de masa libre de grasa e incrementó la masa grasa.³⁷ Lo que sugirió que la respuesta inflamatoria y el efecto catabólico fueron mejor regulados en los niños que recibieron DHA, lo que también podría incidir en una mejor evolución clínica del niño.³⁷

Sin embargo, no se ha estudiado el efecto del DHA sobre el desarrollo de fallas orgánicas en neonatos; por lo que en el presente trabajo se evaluará el efecto de la administración enteral de DHA sobre la frecuencia de fallas orgánicas en neonatos sometidos a cirugía cardiovascular.

2.- JUSTIFICACIÓN:

Los recién nacidos que requieren de cirugía temprana para su tratamiento, como en los casos de cardiopatía congénita, tienen un alto riesgo de desarrollar complicaciones por las condiciones al momento del diagnóstico y el mismo trauma quirúrgico, que pueden provocar la falla orgánica única o múltiple, lo que empeora su pronóstico y puede llevar a la muerte en un 30 a 60% de los casos.^{6,22} Por lo que la FOM se considera la principal causa de muerte en las UCIN con cuidados postquirúrgicos.¹

La cardiopatía congénita es la primera causa de ingreso a la UCIN del Hospital de Pediatría, lo que representa más de 25% de los ingresos. Durante el año 2000 al 2004, ingresaron 389 niños con diagnóstico de cardiopatía, el 31% falleció (n= 121) y el 62% (n= 75) habían sido sometidos a cirugía.³⁸ Por lo anterior, es necesario encontrar una estrategia, que disminuya la frecuencia de fallas orgánicas para favorecer una mejor evolución clínica y en forma indirecta disminuir su mortalidad.

3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Los recién nacidos que son portadores de cardiopatía congénita y que tempranamente necesitan de cirugía como tratamiento se consideran gravemente enfermos y por tanto, con mayor riesgo de desarrollar complicaciones con afectación severa de uno o más órganos. La respuesta inflamatoria sistémica que se presenta después de una cirugía, puede exacerbarse, y al no lograr un equilibrio entre la respuesta inflamatoria sistémica y la respuesta anti-inflamatoria compensatoria, que puede llevar al desarrollo de falla orgánica de uno o más órganos. Este evento puede aumentar la gravedad del paciente, por la hipoxemia antes de la cirugía, el trauma quirúrgico, infecciones agregadas y otros, lo que incrementa la letalidad. Por lo que se requieren estrategias de tratamiento preventivo o curativo para evitar o controlar la falla orgánica. La evidencia científica sugiere que al administrar ácidos grasos de cadena larga omega 3 como el DHA y el EPA en pacientes adultos sometidos a cirugía, disminuye la magnitud de la SIRS y con esto la frecuencia de la falla orgánica; sin embargo, esto no se ha estudiado en el neonato. Aunque los pacientes que no requieren de circulación extracorpórea pueden ser los menos propensos a muerte y complicaciones, son un grupo con menos variabilidad en su evolución clínica.

Por esta razón nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Cuál es el efecto de la administración del DHA en la frecuencia de fallas orgánicas en neonatos sometidos a cirugía cardiovascular?

4.- OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la administración enteral de DHA en la frecuencia de fallas orgánicas en neonatos sometidos a cirugía cardiovascular comparados con aquellos que reciban placebo.

- OBJETIVO SECUNDARIO:

- Comparar el efecto de la administración enteral de DHA en la duración de las fallas orgánicas en neonatos sometidos a cirugía cardiovascular comparados con aquellos que reciban placebo.

5.- HIPOTESIS

HIPOTESIS GENERAL

- Los neonatos que reciben DHA por vía enteral tienen menor frecuencia de fallas orgánicas comparados con los que reciben placebo.

- HIPÓTESIS SECUNDARIA:

Los neonatos que reciben DHA por vía enteral tienen menor duración de las fallas orgánicas comparados con los que reciben placebo.

6.-MATERIAL Y MÉTODOS:

6.1 *Diseño:*

Ensayo clínico controlado, doble ciego.

6.2 *Lugar:*

El estudio se realizó en la Unidad de Investigación en Nutrición del Hospital de Pediatría, C. M. N. Siglo XXI. Los pacientes se captaron en la UCIN del Hospital de Pediatría, C. M. N. Siglo XXI.

6.3 *Población de estudio:*

Niños menores de 28 días de edad posnatal, ingresados a la UCIN del Hospital de Pediatría, C. M. N. Siglo XXI del IMSS, que se sometieron a una intervención quirúrgica cardiovascular como fístula de Blalock-Taussig modificada, cierre de conducto arterioso ó Coartectomía.

6.4 *Criterios de selección*

6.4.1 *Criterios de inclusión*

- Que sus padres acepten participar después de explicarles el objetivo de la investigación.
- Peso adecuado para su edad posnatal de acuerdo a Lubchenco ³⁹ y para niños pretérmino se utilizarán las curvas de Marks. ⁴⁰
- Edad gestacional mayor de 32 semanas.
- Tracto gastrointestinal funcional que le permita recibir el DHA o placebo.
- Que antes de la cirugía no presenten datos de infección. ⁴²

6.4.2 Criterios de eliminación.

- Que por cualquier razón no pudiera ser administrado el DHA o placebo.
- Que los padres retiren el consentimiento porque que continúe en el estudio
- Que el paciente requiera de circulación extracorpórea durante el procedimiento quirúrgico.

6.5 Tipo de muestreo.

No probabilístico. Se captaron a todos los niños que ingresaron a la UCIN y cumplían los criterios de inclusión hasta completar el tamaño de muestra calculado.

6.6 Tamaño de muestra

Se consideró la proporción de los pacientes que desarrollaron fallas orgánicas en el estudio de Pontes-Arruda.³¹ con pacientes con respuesta inflamatoria sistémica bajo ventilación mecánica quienes recibieron aceite de pescado como fuente de LC- PUFAS n-3 por vía enteral; se utilizó una prueba de hipótesis de una cola.⁴¹

$\alpha = 0.05$ área bajo la curva= 1.645

$\beta = 0.20$ área bajo la curva= -0.84

Poder = 90%

$H_1 = p_1 < p_2$ $H_1 = p_1 \neq p_2$

$H_0 = p_1 > p_2$

Total de fallas	p_1 omega 3 n= 55	p_2 placebo n= 43
	n=21 (38.2%)	n= 39 (81.3%)

$$\odot N = \frac{Z_{\alpha} \sqrt{2 p_1(1-p_1)} - Z_{\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}}{p_1 - p_2}^2$$

$$\frac{1.645 \sqrt{2(0.38)(1-0.38)} - (-0.84 \sqrt{0.38(1-0.38) + 0.81(1-0.81)}}{0.38 - 0.81}^2 \quad n = 9$$

6.7 Definición operativa de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN	TIPO DE VARIABLE
Administración de DHA	Administración de 75 mg de DHA/kg/día dividido en 2 dosis ó placebo (aceite de girasol). La administración será preoperatoria, iniciando desde 2 días previos y posterior a la cirugía.	Cualitativa. -DHA -Placebo
Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.	Como respuesta inflamatoria sistémica, donde deben estar presentes al menos 2 de cuatro criterios: 1) Temperatura $>38.5^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$. 2) Taquicardia, definida >180 latidos/min. en ausencia de estímulos externos o fármacos por un periodo de 0.5 a 4 hrs. de duración o bradicardia definida con una FC debajo 100 latidos/min. en ausencia de estímulo vagal, o beta bloqueadores con una duración de 0.5 hr. 3) Frecuencia respiratoria >40 respiraciones/min ó necesidad de ventilación mecánica para un proceso agudo no relacionado con patología neuromuscular. 4) Contéo de leucocitos elevado $>19.5 \times 10^3/\text{mm}^3$ ó $>10\%$ de neutrófilos inmaduros. Dentro de los cuales debe estar incluido la alteración de la temperatura o la cuenta de leucocitos. ⁴²	Cualitativa
Sepsis	La sepsis se definió por consenso internacional como respuesta inflamatoria sistémica, resultado de una infección probada o de la sospecha de ésta. ⁴²	Cualitativa
Sepsis grave	La sepsis grave se definió como la sepsis más uno de los siguientes datos: falla cardiovascular o síndrome de dificultad respiratoria aguda, ó 2 o más fallas orgánicas. ⁴²	Cualitativa
Falla respiratoria	Debe incluir un $\text{Pao}_2/\text{FiO}_2 < 300$ en ausencia de enfermedad pulmonar preexistente ó necesidad probada por $> 50\%$ de FiO_2 para mantener una saturación aceptable $> 70\%$ en cardiopatía, Cuando se encontraban bajo asistencia mecánica a la ventilación, previa al estudio se consideró el incremento de ésta en más de 10% . En cada paciente se consideró la variación de su condición basal de Sat O_2 , FiO_2 , presión positiva, con la evolución posterior, evaluada por el neonatólogo que no conocía el tratamiento administrado. ⁴²	Cualitativa: si/no cuantitativa: duración en días.

VARIABLES	DEFINICIÓN	TIPO DE VARIABLE
Falla cardiovascular	<p>Falla a pesar de la administración de bolos de solución 40 ml/Kg. en 1 hora. intravenosa Hipotensión, presión sistólica sanguínea < 75 mmHg ó necesidad de medicamentos vasoactivos para mantener la presión sanguínea normal (dopamina > 5 ug/Kg/min o bien dobutamina, epinefrina ó norepinefrina en cualquier dosis) ó Dos de los siguientes datos: Acidosis metabólica inexplicable, déficit de base > 5.0 mEq/L, Lactato arterial elevado > 2 veces el límite superior normal (> a 2.3), Oliguria: orina < 0.5 mL/kg/h Llenado capilar prolongado: > 5 segundos. Diferencia entre temperatura periférica y central > 3°C.⁴²</p>	<p>Cualitativa: si/no. Cuantitativa: duración en días.</p>
Falla Hematológica	<p>Conteo de plaquetas menor a 80,000/mm³ o una disminución del 50% del conteo de plaquetas o un INR mayor de 2.⁴²</p>	<p>Cualitativa: si/ no Cuantitativa: duración en días</p>
Falla renal	<p>Elevación de la creatinina sérica mayor de 1.2mg/dl.⁴²</p>	<p>Cualitativa: si/ no Cuantitativa: duración en días</p>
Falla hepática	<p>Incremento de la bilirrubina total >4mg/dl o elevación de ALT dos veces arriba del límite superior para la edad.⁴²</p>	<p>Cualitativa: si/ no Cuantitativa: duración en días</p>

VARIABLES	DEFINICIÓN	TIPO DE VARIABLE
Intercurrentes		
1. Perfil de ácidos grasos	Concentración de ácidos grasos en membrana de eritrocitos, entre ellos el DHA al ingreso del estudio como indicador de contenido tisular. ^{48,49}	Cuantitativa. % de lípidos totales.
2. Ingestión de leche humana	Aporte de leche de la propia madre durante el estudio.	Cuantitativa. Kcal/kg/día
3. Tratamiento con anti-inflamatorios y antibióticos.	Tipo de anti-inflamatorios: esteroideo, dexametasona y no esteroideo, ketorolaco o ácido acetil salicílico durante el periodo posquirúrgico.	Cualitativa esteroideo/no esteroideo, si/no y cuantitativa: mg acumulado y días
4. Gravedad del padecimiento al ingreso del estudio	Estimación del estado de gravedad del padecimiento del niño al ingreso del estudio por medio de la escala Score for Neonatal Acute Physiology, versión II (SNAP-II). ⁴³ Ésta evalúa la presión arterial media, temperatura, relación PO ₂ /FiO ₂ , pH sérico, crisis convulsivas y uresis horaria. ⁴³	Cuantitativa discontinua.
5. Edad gestacional	Estimada por Ballard ⁴⁴ o Capurro ⁴⁵ al nacimiento. Si no se tiene el dato se tomará por fecha de última menstruación.	Cuantitativa. Semanas

6.8 Procedimientos

Este proyecto es parte de un protocolo realizado en la Unidad de Investigación Médica en Nutrición. La captación de pacientes se realizó mediante la visita diaria al servicio de Cuidados Intensivos Neonatales para identificar a los candidatos de estudio. Una vez identificado, se les explicó a los padres el objetivo, procedimientos y los posibles beneficios y riesgos del mismo para solicitarles el consentimiento escrito (la carta de consentimiento del proyecto completo se encuentra en el anexo 6).

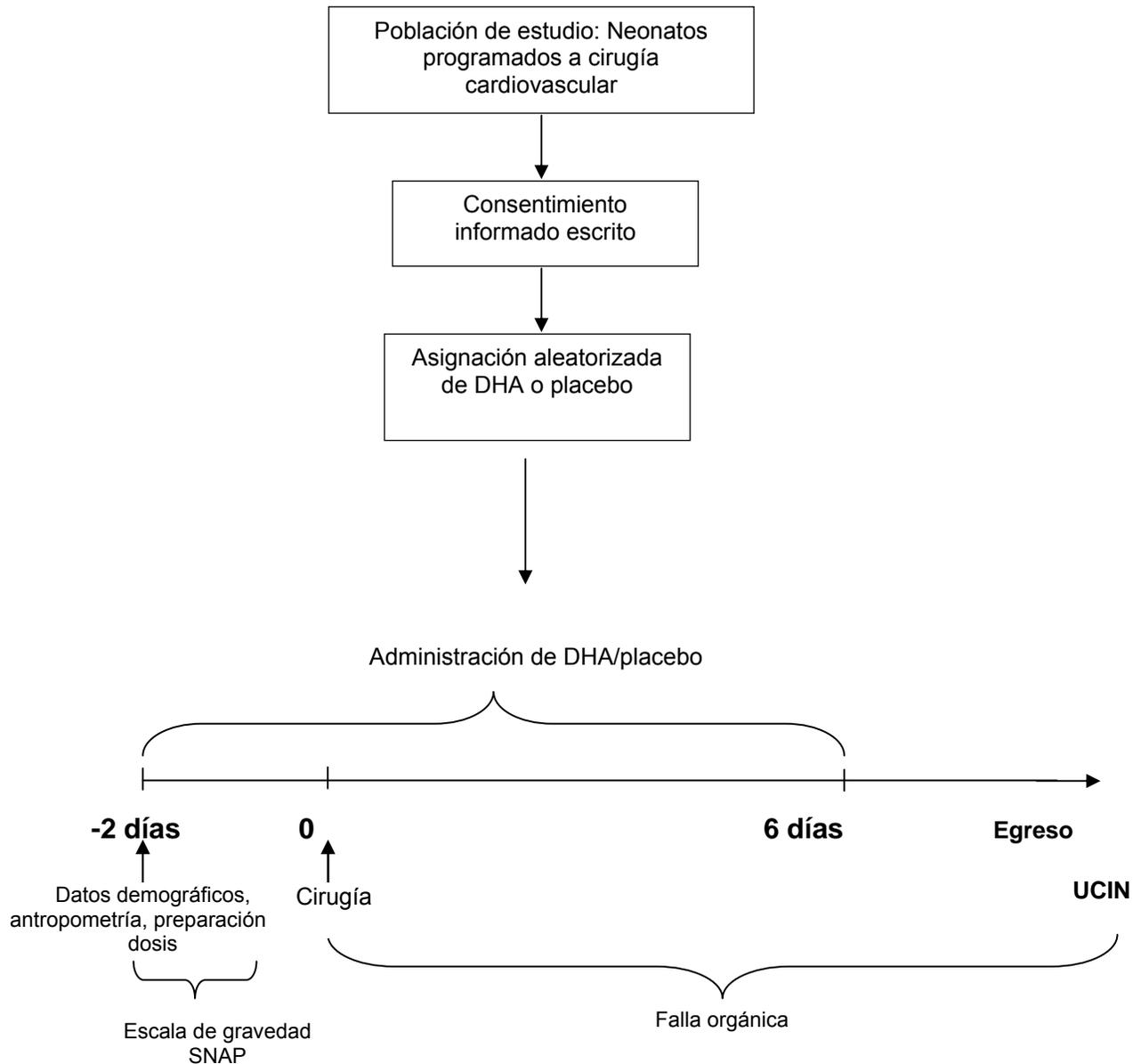
6.8.1 Aleatorización de la intervención. Se realizó mediante sobres opacos cerrados con números de expediente consecutivos sin reemplazo.

6.8.2 Administración de la dosis. El DHA o placebo se administró desde 2 días antes de la cirugía y 6 días post-cirugía, antes de la toma de leche del neonato dividido en 2 dosis (mañana y noche para mantenerlo disponible en circulación por un mayor tiempo). Para administrar el DHA o placebo se utilizó una jeringa estéril y la sonda orogástrica que se utilizaba para su alimentación; si no tenía sonda, se administró por vía bucal colocando la jeringa en el carrillo.

La dosis de DHA se calculó siguiendo las recomendaciones de la Comisión Europea que estableció como recomendación máxima el 1% del total de ácidos grasos como LC-PUFA n-3 ó DHA para el contenido de sucedáneos de leche humana o fórmulas, imitando las concentraciones reportadas para la leche humana.^{46,47} Se conoce que la leche humana contiene entre 3-5 g de lípidos/dL, para un niño de término que consume ~60 mL 8 veces al día, lo que equivale a 240 mg de DHA/día y a 100 mg de DHA/día para un niño pretérmino que consume ~25 ml 8 veces al día, por lo que consideramos que la dosis no excede las concentraciones reportadas en la leche humana. La dosis mencionada se modificó de la

dosis utilizada en estudios anteriores (100 mg de DHA al día)^{35,36} antes del inicio del estudio, esto permitió ajustar la dosis por la variación del peso en los neonatos.³⁷

6.8.3 Cegamiento. El estudio fue doble ciego porque tanto el paciente y como el neonatólogo que evaluó los eventos de falla orgánica no conocieron el tipo de intervención.



6.9 Mediciones

6.9.1 Perfil de ácidos grasos al ingreso del estudio. En la muestra de sangre basal los eritrocitos se separaron y lavaron por medio de centrifugado con solución salina al 0.9% para congelarlos a -70°C y determinar el perfil de ácidos grasos contenidos en los fosfolípidos de la membrana celular, entre ellos el DHA mediante un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 series II (Anexo 1 y 2).^{48,49}

6.9.2 Ingestión de leche humana. Se registró diariamente el volumen ingerido del paciente durante el tiempo de estancia en UCIN. Para la estimación del contenido energético de la leche humana se consideró que cada mililitro aporta 0.67 Kcal en promedio (anexo 5).

6.9.3 Gravedad de la Enfermedad. Se midió a través de la escala Score for Neonatal Acute Physiology, versión II (SNAP-II). Esta escala mide la gravedad de la enfermedad, a mayor valor, mayor es la gravedad del neonato. Este sistema considera 6 variables: presión arterial media, temperatura, relación PO_2/Fio_2 , pH sérico, crisis convulsivas y uresis horaria, y establece puntos de corte asignando una puntuación (anexo 3).⁴³

6.9.4 Datos demográficos. Al ingreso al estudio se registró el género, el apgar, edad gestacional corregida y edad posnatal. También se midió el peso con una báscula marca Sartorius AG Gottingen, modelo EB15DCE-IOUR con precisión de ± 1 g, la longitud se midió con un estadímetro marca SECA modelo 207 y el perímetro cefálico con una cinta de fibra de vidrio marca Gulik para determinar el estado nutricional del paciente como se mencionó en los criterios de inclusión. El resto de los datos se colectaron del expediente clínico o por encuesta a la madre (anexo 4).

6.10 Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS versión 16. La descripción de variables cuantitativas con distribución normal se reportó como media y desviación estándar; si no muestran distribución normal se reportaron como mediana e intervalo.

Para comparar la frecuencia de las fallas orgánicas entre grupos se utilizó la prueba exacta de Fisher. Para ajustar por potenciales confusores o modificadores de efecto se utilizó modelos de regresión logística binaria.

6.11 Aspectos éticos

Tipo de investigación: riesgo mayor al mínimo. Este proyecto fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética del Hospital de Pediatría con el N° 2005/3603/72. En este proyecto se respetaron los principios contenidos en el Código de Nuremberg, la Declaración de Helsinki y sus enmiendas⁵², el Informe de Belmont, el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos y EL Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación⁵³ entre ellos:

- Se informó a los padres o tutores de los procedimientos, objetivos, posible riesgos y beneficios del proyecto.
- Se solicitó consentimiento informado por escrito de los padres o tutores, incluyendo dos testigos.
- Se respetó la confidencialidad de la identificación de los pacientes.
- Se informó a los padres que tenían la libertad de abandonar el estudio en el momento que lo decidieran sin que esto afectara la atención médica de su hijo.

6.12 *Financiamiento*

Este trabajo fue financiado por el Fondo para la Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social con el número FIS/IMSS/PROT/094 y un financiamiento complementario con número FIS/IMSS/PROT/516.

7.- RESULTADOS:

7.1 Variables demográficas

Se estudiaron 23 neonatos, 10 en el grupo DHA y 13 en el grupo placebo, Ambos grupos mostraron características similares (cuadro 1).

Cuadro 1. Variables demográficas

	GRUPO		Valor p
	DHA n = 10	PLACEBO n = 13	
Al nacer			
Edad gestacional, semanas ^{TT}	38.8 ± 1.0	37.8 ± 1.0	0.680 [†]
Sexo [*]			
Masculino	6	6	0.680 [†]
Femenino	4	7	
Apgar [*]			
Minuto 1, < 8	2	4	
≥ 8	7	7	0.642 [†]
Minuto 5, < 8	0	2	
≥ 8	9	9	0.479 [†]
Al ingreso del estudio			
Edad postnatal, días ^{TT}	17.4 ± 1.2	15.1 ± 1.3	0.707 [‡]
Peso, g ^{TT}	2 726 ± 1.1	2 847 ± 1.1	0.611 [‡]
Longitud, cm ^{TT}	49.5 ± 1.0	50.0 ± 1.0	0.658 [‡]
Perímetro cefálico, cm ^{TT}	33.2 ± 1.0	33.4 ± 1.0	0.750 [‡]
Tipo de cirugía			
Fístula sistémico pulmonar [*]	6	9	
Coartectomía [*]	4	4	0.685 [†]

^{*} Frecuencia (%) ^{TT} Media ± error estándar

[†] Comparaciones entre grupos con prueba de Fisher,

[‡]Prueba t de Student.

7.2 Fallas orgánicas

El total de fallas orgánicas fue menor en el grupo DHA comparado con el grupo placebo. Las fallas orgánicas en orden de frecuencia fueron: Respiratoria, cardiovascular, hematológica, renal y hepática (cuadro 2). El grupo DHA tendió a mostrar una menor frecuencia de sepsis y de sepsis grave comparado con el grupo placebo.

Cuadro 2. Desarrollo de fallas orgánicas

	GRUPO		Valor p
	DHA n = 10	PLACEBO n = 13	
Sepsis *	2 (20)	7 (54)	
Sepsis Grave *	1 (10)	3 (23)	
Fallas*			
Respiratorio	1 (10)	4 (31)	
Cardiovascular	1 (10)	3 (23)	
Hematológica	-	3 (23)	
Renal	-	2 (15)	
Hepática	-	1 (8)	
Total de fallas Orgánicas	2	13	<0.001[†]

*Frecuencia (%)

[†] Prueba exacta de Fisher.

Por otro lado, el grupo DHA tendió a mostrar una menor duración de estas fallas orgánicas comparado con el grupo placebo (Figura 1 y 2). El grupo DHA sólo desarrolló un evento de falla respiratoria y cardiovascular, mientras que para la falla hematológica, renal y hepática, no hubo eventos, en este grupo.

Figura 1. Falla respiratoria y cardiovascular de neonatos con cirugía cardiovascular.

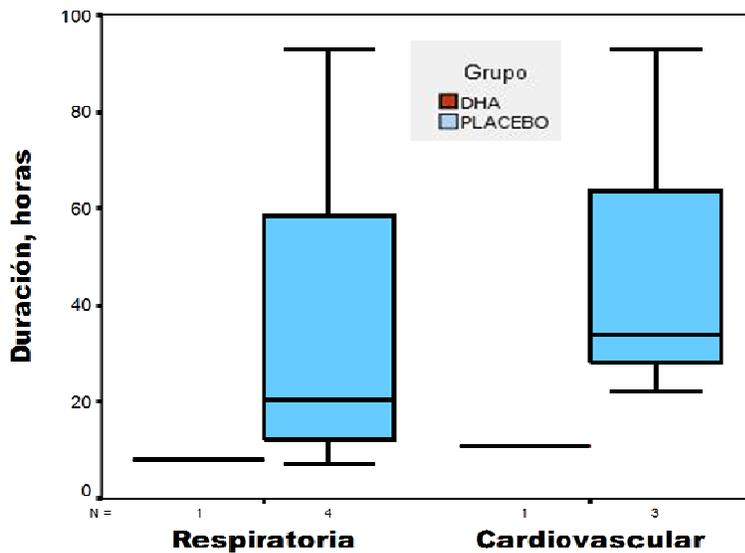
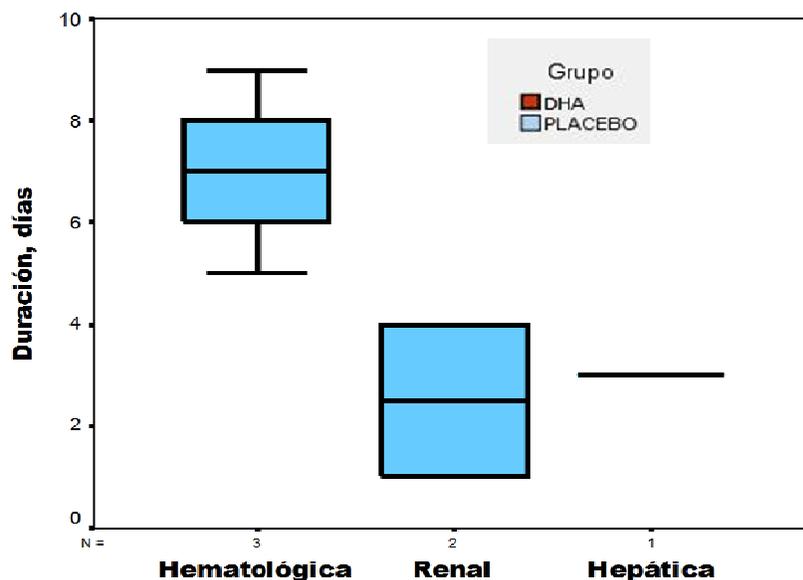


Figura 2. Falla hematológica, renal y hepática de neonatos con cirugía cardiovascular.



7.3 Estimación de riesgos para desarrollo de fallas orgánicas.

Considerando el número de sujetos que desarrollaron falla orgánica se construyó una tabla de 2x2 donde se valoraron los riesgos para desarrollar fallas orgánicas. Con este análisis se observó que el grupo placebo mostró 5.4 veces más riesgo de presentar falla orgánica, con una reducción de riesgo del 81% para el grupo DHA.

	Falla orgánica	Sin falla orgánica
DHA	1 a	9 b
Placebo	7 c	6 d

Cuadro 3. Estimación de Riesgos para el desarrollo de fallas orgánicas.

	RR	Intervalo de confianza AI 95%	Fisher
Con DHA	0.19	0.03 – 1.27	
Con placebo	5.4	0.784 -36.960	0.037
Reducción del riesgo relativo (RRR)	81 %		

Formulas:

$$RR\ DHA = A/(A+B)$$

$$RR\ placebo = C/(C+D)$$

$$RRA\ (reducción\ del\ riesgo\ absoluto) = [RR\ DHA - RR\ placebo]$$

$$RRR\ (reducción\ del\ riesgo\ relativo) = [RR\ DHA - RR\ placebo] / RR\ placebo = RRA / RR\ placebo$$

7.4 Variables intercurrentes

Las variables intercurrentes fueron similares entre los grupos. Aunque se presentó menor cantidad de muestras para determinar el perfil de ácidos grasos debido a que no se determinó en los niños que tuvieron transfusiones de paquete globular (cuadro 4).

El anti-inflamatorio esteroideo utilizado fue dexametasona, mientras que los no esteroideos fueron ketorolaco y ácido acetilsalicílico; en el caso de los antibióticos se utilizaron cefalotina, amikacina, cefuroxima, imipenem, cefotaxima y vancomicina durante el periodo postquirúrgico.

Cuadro 4. Variables intercurrentes

	GRUPO		Valor p
	DHA n = 10	PLACEBO n = 13	
Uso de anti-inflamatorios			
a) Esteroideos*	4 (40)	3 (23)	0.650 [†]
b) No esteroideos*	10 (100)	10 (77)	0.481 [†]
Uso de antibióticos *	10 (100)	13 (100)	1
Ingestión de leche humana, kcal/kg/d [‡]			
Durante intervención	11.2 ± 1.3	5.7 ± 1.5	0.163 [‡]
Durante seguimiento	17.2 ± 1.4	5.4 ± 2.5	0.271 [‡]
Edad gestacional corregida, semanas [‡]	41.3 ± 1.0	40.9 ± 1.0	0.776 [‡]
Gravedad (SNAP II) [‡]	12.3 ± 1.2	14.0 ± 1.2	0.653 [‡]
Duración de pinzamiento [‡]	21.3 ± 1.01	18.2 ± 1.6	0.831 [‡]
Sangrado quirúrgico [‡]	5.4 ± 1.7	8.9 ± 1.6	0.502 [‡]
Duración de Cirugía [‡]	98.4 ± 1.1	93.3 ± 1.2	0.800 [‡]

* Frecuencia [‡] Media ± error estándar

[†] Comparaciones entre grupos con prueba de Fisher

[‡] Prueba t de Student

Cuadro 4. Variables intercurrentes en neonatos (continuación)

Perfil de ácidos grasos al ingreso del estudio, %	GRUPO		Valor P*
	DHA n = 5	PLACEBO n = 8	
Linoléico (LA, 18:2 n-6)	8.0 ± 0.82	9.2 ± 1.7	0.261 [‡]
α- Linolénico (LNA, 18:3 n-3)	0.58 ± 0.12	0.59 ± 0.08	0.940 [‡]
Araquidónico (AA, 20:4 n-6)	18.7 ± 0.63	17.4 ± 0.78	0.264 [‡]
Eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3)	0.25 ± 0.03	0.32 ± 0.004	0.250 [‡]
Docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3)	6.7 ± 0.64	5.6 ± 0.38	0.139 [‡]
Ac. Grasos n-3 (LNA+EPA+DHA)	7.5 ± 0.58	6.5 ± 0.38	0.147 [‡]
Ac. Grasos n-6 (LA + AA)	26.4 ± 0.93	26.6 ± 0.57	0.861 [‡]
AA/DHA	2.6 ± 0.22	3.2 ± 0.24	0.164 [‡]
n-6/n-3	3.45 ± 0.37	4.2 ± 0.27	0.133 [‡]

Media ± error estándar

* Comparaciones entre grupos con Prueba t de Student

8.-DISCUSIÓN:

Cuando se presentan manifestaciones clínicas en un recién nacido portador de cardiopatía congénita y que se considera necesario para su tratamiento definitivo o paliativo una procedimiento quirúrgico, por lo general son secundarias a hipoxemia de diferentes grados o a falla cardiaca, ambas situaciones ponen en riesgo la función de algún órgano de la economía, principalmente cardiovascular o respiratoria. Si a esto se agrega el evento quirúrgico y/o una complicación de tipo infecciosa es una alta posibilidad de desarrollar FOM. La frecuencia de falla orgánica múltiple en la etapa neonatal es la más alta reportada en la población pediátrica hasta en un 30- 60% ^{6,22}, estos podría deberse a limitaciones fisiológicas y adaptativas de corazón, respiratorias y metabólicas que llevan a más rápida descompensación orgánica, de mayor frecuencia, a menor peso y edad gestacional, así como a la presencia de malformaciones cardiacas. ^{6,18,22}

En el presente estudio el 35% de los pacientes estudiados desarrollaron al menos una falla orgánica después de una cirugía de tórax, lo que fue consistente con la literatura (30% y 60%). ^{6,18,22}

En el presente trabajo se demostró que la administración de un suplemento de ácidos grasos omega 3, específicamente el DHA por vía enteral, disminuyó la frecuencia de falla orgánica en neonatos previo a ser sometidos a cirugía torácica, lográndose disminuir la frecuencia de falla de 54% en el grupo placebo a 20% en los pacientes que recibieron el DHA. Lo anterior se tradujo en un riesgo 5 veces mayor de desarrollar FOM en los neonatos que recibieron el placebo comparados con los suplementados con DHA, aunque no se alcanzó la significancia estadística. Lo que equivale a una disminución del riesgo de 81%, una cifra trascendente si consideramos los riesgos de mortalidad en la FOM. Estos efectos benéficos probablemente

se debieron a una mejor modulación de la producción de citocinas inflamatorias circulantes, a la utilización del DHA como sustrato para la síntesis de eicosanoides con menor potencia biológica, y a la posible participación de resolvinas, cuya función favorece una apoptosis más rápida de neutrófilos, menor producción de citocinas inflamatorias y por tanto, disminución de la quimiotaxis de neutrófilos en el sitio de la inflamación.²⁴⁻³⁰

Aunque se han descrito los posibles mecanismos de la utilización de los omega 3, el proceso inflamatorio está determinado por mecanismos muy complejos, con origen multifactorial modificados por diversas circunstancias genéticas, ambientales, del grado de estímulo, la condición de salud previa entre otras, por lo que en este tipo de trabajos difícilmente podemos lograr la captación de un alto número de pacientes con características homogéneas.

Los resultados del presente estudio fueron comparables a dos estudios realizados en adultos con respuesta inflamatoria, donde se demostró que el grupo que recibió los n-3 LC-PUFAS desarrollaron menos fallas orgánicas totales (81% vs 38%, $p= 0.001$)²⁶ y (8% vs. 28%, $p = 0.015$) comparados con el grupo placebo.³¹ En el mismo sentido, los pacientes que recibieron los n-3 LC-PUFAS mostraron una menor duración de apoyo mecánico a la ventilación de 5³⁴ y 7³¹ días menos que el grupo placebo. En nuestros pacientes suplementados con DHA no encontramos un menor tiempo en la necesidad de asistencia mecánica a la ventilación, lo que podría deberse al bajo número de pacientes que desarrollaron falla respiratoria ya que no fue diseñado para probar diferencias en fallas específicas, y más probablemente debido a que muchos de nuestros pacientes requirieron de este apoyo antes de la cirugía.

En otro estudio realizado por Patch y cols. en pacientes con insuficiencia respiratoria aguda, también demostró que los pacientes que recibieron n-3 LC-PUFAS tuvieron mejoría

significativa en la oxigenación comparados con los pacientes que recibieron placebo, lo que indicó un efecto benéfico para falla respiratoria.³²

Por otro lado, Heller y cols. no encontró una diferencia significativa en el desarrollo de FOM entre los pacientes que recibieron una dosis de 0.15 – 0.2 g/kg/día de aceite de pescado comparados con los pacientes que recibieron 0.05 g/kg/día, posiblemente porque se comparó con un grupo heterogéneo de pacientes, con diferentes diagnósticos y grados de respuesta inflamatoria. No obstante, los pacientes que recibieron la mayor dosis presentaron efectos benéficos como menor frecuencia en infecciones, menor estancia intrahospitalaria y menor mortalidad.³³

Nuestro grupo de trabajo, ha desarrollado trabajos previos con recién nacidos con sepsis y en los que se demostró un menor deterioro del estado nutricional en los neonatos con sepsis que recibieron el DHA, esto a su vez podría reflejar una mejor modulación de la respuesta inflamatoria en los pacientes que recibieron el DHA.³⁷ En un trabajo posterior, pudimos constatar que los ácidos grasos administrados en estos pacientes se habían incorporado a las membranas de los leucocitos al compararse con su basal al día 7 del estudio, lo que indicó que durante la fase de expansión clonal de los leucocitos, los ácidos grasos fueron incorporados a la membrana, disminuyendo las concentraciones circulantes de IL-1 beta e IL-6.^{35,36}

En nuestro estudio el sistema respiratorio fue el órgano que presentó más fallas con un 41% de los casos, seguida de la falla cardiovascular en un 33%, cuyo orden de frecuencia fue similar a otros estudios pediátricos.^{6,18, 22} En tercer lugar, la falla hematológica que ocurrió en un 23% similar a lo reportado por López de 28%²² y superior a otros autores con una incidencia del 7% al 9%.¹⁸

A nuestro conocimiento, este estudio es novedoso ya que es el primer trabajo que evalúa el efecto de un ácido graso n-3 sobre el desarrollo de fallas orgánicas en neonatos que cursan con respuesta inflamatoria aguda. El tamaño de muestra fue suficiente para probar la hipótesis de que el DHA disminuye la frecuencia de fallas orgánicas en una población de alto riesgo a desarrollarlas y morir por esta causa.

9.-CONCLUSIONES.

1. La administración enteral de DHA a recién nacidos que son sometidos a cirugía cardiovascular es útil para disminuir la frecuencia de fallas orgánicas como complicación en estos niños.
2. No fue posible concluir en el efecto del DHA sobre la duración de fallas orgánicas específicas debido a que el estudio no se diseñó para este propósito y el tamaño de muestra fue insuficiente.
3. La administración DHA a pacientes que son sometidos a cirugía parece disminuir la frecuencia de sepsis y sepsis grave como complicación, después del procedimiento quirúrgico.

10. RECOMENDACIONES:

1. Consideramos que en neonatos que serán sometidos a cirugía debe administrarse, al menos, el límite mayor recomendado por Koletzko y cols.⁴⁶ en la que se considera que el DHA debe corresponder a 0.2 a 0.5% de ácidos grasos totales.
2. Está cantidad de DHA puede obtenerse a partir de la alimentación con leche de la propia madre, solamente, si ella ingiere al menos dos porciones de pescado graso a la semana como: atún aleta amarilla, pargo, huachinango, salmón, arenque, bacalao, trucha silvestre, o bien huevo fortificado, entre otros. Mientras que deben evitarse especies depredadoras como el tiburón, el pez espada y el marlin.⁵⁴
3. En caso de que los niños sólo reciban sucedáneo de leche humana, debe utilizarse la fórmula, que se encuentre suplementada con la mayor cantidad de DHA.⁴⁶
4. Sería útil la aplicación de esta intervención en otras unidades de cuidados intensivos neonatales y con un mayor número de pacientes, para valorar si existe consistencia en los resultados.

11.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Angele MK, Faist E. Clinical review: Immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. *Critical Care* 2002; 6:298-305.
2. Bone RC. Immunologic dissonance: A continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Ann Intern Med* 1996; 125:680–687.
3. Fry D, Pearlstein L, Fulton R. Multiple system organ failure: The role of uncontrolled infection. *Arch Surg* 1980; 115:136–140
4. Bone RC. Sir Isaac newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med*. 1996; 24:1125-1128.
5. Mizock B. The Multiple Organ Dysfunction Syndrome, *Dis Mon* 2009; 55:476-426.
6. Proulx F, Joyal JS, Mariscalco M, Leteurtre S, Leclerc F, Lacroix J. The pediatric multiple organ dysfunction syndrome. *Pediatr Crit Care Med* 2009; 10: 12–22.
7. Nakayama KD, Bose LC, Chescheir CN, Valley DR. Anesthesia and postoperative pain management En: Valley D.R. ed. *Critical Care of the Surgical Newborn*. 1th edition, New York: Futura Publishing company, 1997: 126-127.
8. Hovels-Gürich HH, Schumacher K, Vazquez-Jimenez JF, Quing M, Hüffmeier U, Buding B, Messmer BJ, Bernuth GU, Seghaye M. Cytokine balance in infants undergoing cardiac operation. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 601-609.
9. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101:1644-1655.

10. Bölke E, Jehle PM, Trautmann M, Götz I, Krebs B, Steinbach G, Orth K. Different acute-phase response in newborns and infants undergoing surgery. *Pediatr Res* 2002; 51:333-338.
11. Botha AJ, Moore FA, Moore EE, Kim FJ, Banerjee A, Peterson VM. Postinjury neutrophil priming and activation: an early vulnerable window. *Surgery* 1995; 118:358-364.
12. Wilkinson J, Pollack M, Ruttimann U. Outcome of pediatric patients with multiple organ system failure. *Crit Care Med* 1986;14: 271–274.
13. Despond O, Proulx F, Carcillo JA, Lacroix J. Pediatric sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Curr Opin Pediatr* 2001; 13:247-253.
14. Hofmeyr SA. An Interpretative introduction to the immune system. April 25, 2000. Consultado el 18 diciembre del 2008.
<http://www.scs.carleton.ca/~soma/biosec/readings/hofmeyr-immune-overview.pdf>
15. Patrick DA, Moore FA, Moore EE, Barnett CC, Silliman CC. Neutrophil priming and activation in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure. *New Horiz* 1996; 4:194-210.
16. Lee P, Holt P, McWilliam A. Role of alveolar macrophages in innate immunity in neonates. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23:652–661.
17. Levy O, Martin S, Eichenwald E, Ganz T, Valore E, Carrol SF, Lee K, Goldmann D, Thome GM. Impaired innate immunity in the newborn: Newborn neutrophils are deficient in bactericidal/permeability-increasing protein. *Pediatrics* 1999;104: 1327-1333.
18. Forero J. Síndrome de disfunción orgánica múltiple en pediatría. *MedUNAB* 2004; 7: 21-28.

19. Wilkinson JD, Pollack MM, Glass NL. Mortality associated with multiple organ system failure and sepsis in pediatric intensive care unit. *J Pediatr* 1987; 111:324–328
20. Tantalean JA, León RJ, Santos A, Sánchez E. Multiple organ dysfunction syndrome in children. *Ped Crit Care Med* 2003; 4:181-185.
21. Wilkimson J. Mortality associated with multiple organ dysfunction in the surgical newborn. *J Pediatr Suppl* 1994; 396:21-3.
22. López A, Castrillo M, Centrito C. Falla de múltiples órganos y sistemas en niños críticamente enfermos. *Med Crit Venez*; 2000; 16:39-44.
23. Uthaisangsook S, Day NK, Bahna SL, Good RA, Haraguchi S. Innate immunity and its role against infections. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 88:253–265.
24. Calder PC. Immunonutrition in surgical and critically ill patients. *Br J Nutr* 2007; 98 (suppl 1):S133-S139.
25. Schmitz G, Ecker J. The opposing effects of the n-3 and n-6 fatty acids. *Prog Lipid Res* 2008;47:147-55.
26. Calder PC. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Clin Nutr* 2006; 83(suppl): 1505-1519.
27. P.C. Calder, The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function, *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids* (2008), doi:10.1016/j.plefa.2008.09.016.
28. Calder PC. Immunomodulation by omega-3 fatty acids, *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2007; 77: 327-335.
29. Serhan ChN. Resolution phase of inflammation: Novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev immunol* 2007;25:101-137.
30. Ariel A, Serhan ChN. Resolvins and protectins in the termination program of acute inflammation. *TRENDS in immunology* 2007;28;176-183.

31. Pontes-Arruda A, Albuquerque AM, Deusdará J. Effects of enteral feeding with eicosapentaenoic acid, -linolenic acid, and antioxidants in mechanically ventilated patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2006;34:2325-2333.
32. Pacht ER, DeMichele SJ, Nelson JL, Hart J, Wennberg AK, Gadek JE. Enteral nutrition with eicosapentaenoic acid, -linolenic acid, and antioxidants reduces alveolar inflammatory mediators and proteína influx in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2003; 31:491–500.
33. Heller A, Rössler S, Linz RJ, Stehr SN, Heller SC, Koch R, Koch T. Omega-3 fatty acids improve the diagnosis-related clinical outcome. *Crit Care Med* 2006;24:972-979.
34. Gadek JE, DeMichele SJ, Karlstad MD, Pacht ER, Donahoe M, Albertson TE, Hoozen Ch V, Wennberg AK, Nelson JL, Noursalehi M. Effect of enteral feeding with eicosapentaenoic acid, gamma-linolenic acid, and antioxidants in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1999;27:1409-1420.
35. González MG. Evaluación de la incorporación del ácido docosahexaenoico a la membrana celular de los leucocitos al administrarse por vía enteral en la fase aguda de la sepsis. Efecto en la concentración de citocinas. México 2008. Tesis de Maestría en Ciencias de los Alimentos y Nutrición Humana. Universidad La Salle.
36. Del Valle MFO. Efecto del ácido docosahexaenoico sobre las concentraciones de citocinas de neonatos con sepsis. México, 2007. Tesis de Especialidad en Pediatría Médica. Facultad de Medicina. UNAM.
37. López-Alarcón M, Bernabe-Garcia M, Del Prado M, Rivera D, Ruiz G, Maldonado J, Villegas R. Docosahexaenoic acid administered in the acute phase of infection protects the nutritional status of septic neonates. *Nutrition* 2006;22:731-737.

38. Kitaoka CY. Prevalencia y letalidad de las cardiopatías congénitas en una unidad de cuidados intensivos neonatales de tercer nivel. México. 2005. Tesis de subespecialidad en Neonatología.
39. Lubchenco LO, Hansman Ch, Dressler M, Boyd E. Intrauterine growth as estimated from liveborn birth-weight data at 24 to 42 weeks of gestation. *Pediatrics* 1963;32:793-800.
40. Marks KH, Maisels JM, Moore E, Gifford K, Friedman Z. Growth in sick premature infants –a longitudinal study. *J Pediatr* 1979;94:282-285.
41. Dawson B, Trapp R.G. Research questions about two separate or independent groups. En: Dawson B, Trapp R.G. eds. *Basic and clinical biostatistics*. 4th edition. New York: Lange Medical Books/ McGraw-Hill, 2004:134-161.
42. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005;6:2-8.
43. Richardson D, Corcoran J, Escobar G, Lee S. SNAP II and SNAPPE-II: Simplified newborn illness severity and mortality risk scores. *J Pediatr* 2001;138:92-100.
44. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp-R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr* 1991;119:417-423.
45. Capurro H, Konichezky S, Fonseca D, Caldeyro-Barcia R. A simplified method of fetal maturation of the newborn infant. *J Pediatr* 1978;93:120.
46. Koletzko B, Lien E, Agostoni C, Böhles H, Campoy C, Cetin I, Decsi T, Dudenhausen JW, Dupont C, Forsyth S, Hoesli I, Holzgreve W, Lapillonne A, Putet G, Secher NJ, Symonds M, Szajewska H, Willatts P, Uauy R. The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *J. Perinat. Med.* 2008; 36:5-14.

47. Brenna JT, Varamini B, Jensen RG, Diersen-Schade DA, Boettcher JA, Arterburn LM. Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human breast milk world wide. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:1457-1464.
48. Del Prado M, Villalpando S, Gordillo J, Hernandez-Montes H. A high dietary lipid intake during pregnancy and lactation enhances mammary gland lipid uptake and lipoprotein lipase activity in rats. *J Nutr* 1999;129:1574-1578.
49. Evershed RP. Gas chromatography of lipids. En: Hamilton RJ, Hamilton S, eds. *Lipid analysis. A practical approach*. Oxford, NY USA: Oxford University Press; 1992.
50. Krafte-Jacobs B, Pollack M. Multiple organ system failure in children. *Crit Care Med* 1993;22:903-904.
51. Prolux F. Timing and predictors of death in pediatric patients with multiple organ system failure. *Crit Care Med* 1994; 22: 1025-1031.
52. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 59ª Asamblea, Seúl, Corea, octubre 2008. Consultado el 13 de noviembre de 2008.
http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/17c_es.pdf
53. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos, 7 de febrero de 1984. Consultado el 14 de noviembre de 2008.
<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>
54. Koletzko B, Cetin I, Brenna T. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *Br J Nutr* 2007; 98:873-877.

12. ANEXOS.

Anexo 1. Obtención y preparación de los eritrocitos.

- Centrifugar la sangre completa a 2000 rpm durante 15 minutos para separar plasma y paquete celular.
- Se separan el plasma y los leucocitos dejando en el tubo solo el resto del paquete celular.
- Colocar el paquete celular en un tubo de ensaye de 10 ml y aforar con solución salina al 0.9%.
- Mezclar el paquete globular y la solución salina suavemente para evitar la ruptura de las células.
- Se colocan los tubos en las camisas de la centrífuga y se equilibran para centrifugar a 4000 rpm por 10 minutos.
- Una vez centrifugado se observa en el fondo del tubo el paquete de eritrocitos. Se retira el sobre-nadante procurando no perder las células.
- Se vuelve agregar solución salina al 0.9% y se repiten los lavados hasta que se aclare el sobre-nadante y se observen los eritrocitos limpios en el fondo del tubo.
- Ya obtenido el botón de eritrocitos; se recuperan, de ser necesario, con la menor cantidad de solución salina al 0.9%.
- Se pasan los eritrocitos a tubos eppendorf de 1.5 ml.
- Una vez en los tubos eppendorf estos se protegen de la luz con papel aluminio y se almacena la muestra a -70°C

Anexo 2. Separación de lípidos y determinación del perfil de lípidos

- Para su determinación, los eritrocitos se descongelan lentamente y los ácidos grasos se extraen con isopropanol y hexano (4.5 y 6 mL, respectivamente). Se agrega una solución antioxidante (hidroxitolueno butilado 20 mg en 10 mL de hexano) y se mezclan con un vortex por 10 min. Posteriormente se centrifuga a 2000 rpm (1200 g) x 5 min. a 4°C. Después se usa un flujo de nitrógeno para acelerar la extracción. Posteriormente se metilarán los ácidos grasos.
- La metilación de ácidos grasos se realiza de la siguiente manera: Por cada 20 mg de lípidos, se agrega 1 mL de metanol (MeOH) y 1 mL de ácido clorhídrico 3 Normal en metanol (Ácido Clorhídrico Metanólico) + 50 µl de una solución de hexano con C17 (ácido margárico) como estándar interno, la cual se prepara con 1.33 mg de C17/mL de hexano.
- Se incuba en el termoblock a 90°C durante 1 hora y se deja enfriar a temperatura ambiente. Se agrega poco a poco una mezcla en polvo de cloroformo, metanol, y sulfuro (2:2:1) hasta observar el desprendimiento de bióxido de carbono (se observan burbujas).
- Se agrega 1 mL de hexano, se agita y luego se centrifuga a 2000 rpm durante 5 minutos para separar la fase orgánica (fase superior), la cual se coloca en otro tubo.
- La fase orgánica se evapora con nitrógeno y se agrega 1 mL de hexano.
- Para identificar cada ácido graso, se separan con una columna de 100 mm empacada con CP-Sil 88% después de 2 días en un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 5890 series II. Avondale, PA).^{32,33}

Anexo 3. Gravedad del recién nacido enfermo.

Se estimó por medio de una escala denominada SNAP-II (Score for Neonatal Acute Physiology, versión II). Este sistema considera 6 variables, establece puntos de corte y asigna una puntuación; la puntuación de cada variable se suma por lo que a mayor puntuación, mayor es la gravedad.⁴⁰

Sistema para evaluar SNAP-II

Variable	Puntaje
Presión arterial media 20-29 mm Hg	9
Presión arterial media < 20 mm Hg	19
Temperatura corporal baja 35 - 35.5°C	8
Temperatura corporal baja < 35°C	15
Relación PO ₂ /Fio ₂ 1.0 - 2.49	5
Relación PO ₂ /Fio ₂ 0.3 – 0.99	16
Relación PO ₂ /Fio ₂ < 0.3	28
pH sérico bajo 7.10 – 7.19	7
PH sérico bajo < 7.10	16
Crisis convulsivas	19
Uresis horaria 0.1 – 0.9 (mL/kg/h)	5
Uresis horaria < 0.1 (mL/kg/h)	18

Nº de incubadora Grupo **A** **B** Nº de expediente

IV. Diagnósticos de egreso del estudio		Fecha dd/mm/aa
1.	_____	_____
2.	_____	_____
3.	_____	_____
4.	_____	_____
5.	_____	_____

V. Recibió el suplemento (DHA ó placebo)						
Día de Estudio	Fecha dd/mm/aa	Sí*	No*	Hora (h : min.)		Observaciones
				Dosis 1	Dosis 2	
-2						
-1						
0						
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						

*Marque con una x

VI. Variables clínicas: tipo de Sepsis/Sepsis grave/Choque séptico (con germen aislado)	Fecha inicio dd/mm/aa	Fecha término dd/mm/aa	Duración (días)
Sepsis: _____	_____	_____	_____
Sepsis grave: _____	_____	_____	_____
Choque séptico: _____	_____	_____	_____
Falla Respiratoria (necesidad de ventilador) _____	_____	_____	_____
Falla Cardiovascular (Nombre de Aminas) _____	_____	_____	_____
Estancia Hospitalaria _____	_____	_____	_____
Tipo de cirugía _____			
Duración de la cirugía (h:min) _____ Tiempo total de bomba (min.) _____			
Tiempo con isquemia durante la cirugía (paro circulatorio)(min.) _____			
Sangrado durante cirugía (mL) _____ Transfusión durante cirugía _____			

Nº de incubadora

--	--	--

Grupo

A	B
----------	----------

Nº de expediente

--	--

VII. Complicaciones post-cirugía (dentro de los 30 días post-cirugía en UCIN): Re-intubación, neumonía, re-operación, enterocolitis, íleo, reflujo gastro-esofágico, hemorragia cerebral y mortalidad.	Fecha dd/mm/aa
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	
8.	
9.	
10.	
11.	
12.	
13.	
14.	

VIII. Estado nutricional al ingreso del estudio				
Día Nº	Fecha dd/ mm/ aa	Peso (g)	Longitud (cm)	Perímetro Cefálico (cm)
1.	_/_/_	_____	_____	_____
2.	_/_/_	_____	_____	_____
3.	_/_/_	_____	_____	_____
		X = _____	X = _____	X = _____

Al ingreso del estudio Percentil peso/edad: _____ Percentil peso/talla: _____ Ref. _____

IX. Muestras de sangre	Fecha dd/mm/aa	Hora h:min	Vol. (mL) EDT A	Heparin a	Responsable de la toma y procesam.	Observaciones
Basal						
Cierre de Hx Qx.						
24 h post-cirugía						
48 h post-cirugía						
7 días post-cirugía						

Anexo 5.

REGISTRO DE INGESTIÓN DE LECHE HUMANA DURANTE EL ESTUDIO

Nombre de la madre: _____ Hoja N° _____

Paciente: _____ Expediente: _____

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Fecha	Cantidad de leche humana que recibió (mL)
Hora	
07:00 h	
10:00 h	
13:00 h	
16:00 h	
19:00 h	
22:00 h	
01:00 h	
04:00 h	

Anexo 6. Carta de consentimiento informado



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Centro Médico Nacional Siglo XXI. Hospital de Pediatría
Unidad de Investigación Médica en Nutrición y Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales

Carta de consentimiento informado para participar en el proyecto: “Efecto de la administración del ácido docosahexaenoico sobre la respuesta inflamatoria y la evolución clínica de neonatos sometidos a cirugía cardiotorácica”

Señores Padres de Familia:

Solicitamos su permiso para incluir a su hijo en un proyecto de Investigación Médica.

Posibles beneficios. El objetivo de esta investigación es saber si administrando un nutrimento llamado DHA a su niño cuando va a someterse a una cirugía, este nutrimento disminuye la inflamación y tiene una evolución clínica menos grave y se recupera más pronto. En adultos se ha reportado que la administración de este nutrimento disminuyó la inflamación cuando que se sometieron a cirugías y los ayudó a tener menores complicaciones con una recuperación más rápida.

Para llevar a cabo esta investigación es necesario administrar a su niño el nutrimento en forma de aceite por la boca o sonda durante 8 días. Si probamos que este nutrimento también beneficia a los niños, se propondrá como parte de la terapia que reciban los niños cuando se someten a cirugía.

Posibles riesgos. El DHA se encuentra normalmente en la leche materna, además utilizaremos las mismas cantidades de DHA utilizadas en un estudio anterior, en el que no se observó daño, por lo que si no se obtiene el beneficio, tampoco esperamos que tenga efectos adversos. Por otro lado, la realización del estudio requiere que se comparen los resultados de los niños que reciben el suplemento con los resultados de los niños que no lo reciban, y la asignación del tratamiento se hace al azar, por lo que sabremos quién recibió el suplemento hasta el final del estudio.

La participación de su niño en este estudio no tiene costo para usted. Este proyecto fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética de este Hospital con el N° 2005/3603/72. Nos comprometemos a darle información actualizada obtenida durante el estudio, aunque ésta pudiera afectar su voluntad para continuar participando en el mismo; también nos comprometemos a manejar sus datos en forma confidencial y a responder cualquier pregunta acerca del proyecto. Para lo anterior, deberá dirigirse con la M en C. Mariela Bernabe García Matrícula 11111852, al Tel. 56 27 69 00 Ext. 22483 de la Unidad de Investigación Médica en Nutrición ubicada en el 4° piso de este Hospital.

Si usted está de acuerdo en que su niño participe en el proyecto, por favor firme esta forma. Si no está de acuerdo, por favor firme y marque NO. En caso de que acepte participar pero después decida ya no hacerlo, tendrá la libertad de abandonar el estudio sin que por eso se afecte la atención y el tratamiento que su niño está recibiendo.

Agradecemos su participación y contribución en el mejoramiento del manejo de los niños enfermos.

ACEPTO PARTICIPAR SI NO Lugar: México, D. F., Fecha: ____/____/____
 Cama N° _____

Nombre del niño(a) _____

Nombre y firma de la madre/ tutor _____

Nombre y firma del padre/tutor _____

Nombre del testigo 1 y relación con el niño(a): _____

Dirección del testigo 1 _____

Nombre del testigo 2 y relación con el niño(a): _____

Dirección del testigo 2 _____

Nombre y firma del médico tratante en UCIN: _____

Nombre y firma del investigador _____